

**Erzurum Karasu Nehri Balıklarından *Chalcalburnus mossulensis*'in  
(Heckel, 1843) Karyotip Özellikleri****Turgay ŞİŞMAN<sup>1\*</sup>, Fatma ŞANLI<sup>1</sup>, Yahya TEPE<sup>1</sup>, Derya KILIÇ<sup>1</sup>**<sup>1</sup>Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, 25240 Erzurum.

\*Sorumlu Yazar Tel.:+90 442 231 43 37

E-posta:tsisman@atauni.edu.tr

Geliş Tarihi: 01.02.2016

Kabul Tarihi: 30.09.2016

**Öz**

Bu çalışmada *Chalcalburnus mossulensis*'in (Heckel, 1843) karyotipik özellikleri solungaç ve böbrek dokularından elde edilen metafaz kromozomları incelenerek araştırıldı. Çalışmada kullanılan balıklar Karasu Nehri'nin iki farklı noktasından serpmeye ağ kullanılarak yakalandı. Balıklar canlı olarak laboratuvara getirildi ve analizden önce havalandırılmış akvaryumlara yerleştirildi. Balıkların solungaç ve böbrek epitel hücreleri karyotip analizi için kullanıldı. Bu hücrelerden en iyi metafaz kromozom yayılımları 50 dakika hipotonik (0.075 M KCl) uygulama, hazırlanmış karnoy solüsyonu 3:1 oranında (metanol:glisyal asetik asit) ile fiksasyon ve %5'lik Giemsa ile 35 dakika boyama sonucu elde edildi. Hazırlanan preparatlarda yapılan incelemeler sonucunda *Chalcalburnus mossulensis*'in  $2n=50$  kromozoma sahip olduğu anlaşıldı. Karyotip analizi sonucunda *Chalcalburnus mossulensis*'de 8 metasentrik, 10 submetasentrik, 3 subtelosentrik ve 4 telosentrik kromozom çifti olduğu belirlendi (16M+20SM+6ST+8T). Kol sayısı ise FN=92 olarak tespit edildi. Karyotip simetri/asimetri indeksi de 2.12 olarak hesaplandı. Karyotipin balıkların solungaç ve böbrek hücrelerinde aynı olduğu görüldü. İncelenen türde sitolojik olarak cinsiyete bağlı herhangi bir kromozom tespit edilemedi.

**Anahtar Kelimeler:** Tatlısu gümüş balığı, kromozom, karyogram, idiyogram.**Abstract****Karyotype Characteristics of *Chalcalburnus mossulensis* (Heckel, 1843) from Karasu River, Erzurum**

The karyotypic characteristics of *Chalcalburnus mossulensis* (Heckel, 1843) have been investigated by examining metaphase chromosome spreads obtained from gill and kidney tissues. The fish used in the study were caught with fishing nets from two main tributaries of the Karasu River. The live fish were transported to the laboratory, and kept in a well aerated aquaria before analysis. Kidney and gill epithelia of fish were used for karyotype analysis. The best treatment parameters for preparing good metaphase chromosome spreads from the cells were optimized as hypotonic 50 minutes (0.075 M KCl) treatment, fixation with carnoy solution at 3:1 ratio (methanol: acetic acid) and a concentration of 5% Giemsa for 35 minutes. It was determined that *Chalcalburnus mossulensis* had  $2n=50$  chromosomes by investigation of the chromosome spreads. *Chalcalburnus mossulensis* karyotypes were determined as being composed of 8 metacentric, 10 submetacentric, 3 subtelocentric and 4 telocentric chromosome pairs (16M+20SM+6ST+8T). The fundamental arm numbers of chromosomes were determined as FN=92. Karyotype symmetry/asymmetry index was 2.12. Karyotype of gill and kidney cells was the same. No sex chromosomes were cytologically detected in the fish species.

**Keywords:** Freshwater silver fish, chromosome, karyogram, ideogram.

## Giriş

Türlerin sistematik yerinin tayin edilmesinde eskiden beri morfolojik ve anatomik karakterler kullanılmaktadır. Ancak son 50 yıldır gelişen araştırma ve görüntüleme teknikleriyle hücre çekirdeğinde bulunan kromozomların ince yapısı hakkında çok fazla çalışma yapılmıştır. Yapılan bu sitogenetik çalışmalar hayvan ve bitki taksonomisinin gelişimine önemli yararlar sağlamıştır. Sitogenetik araştırmalar, kromozomların sayısının, şeklinin ve yapısının her canlının kendine has bazı karakterler taşıdığını göstermiştir. Kromozomlar üzerindeki çalışmaların taksonomiye uygulanmasıyla ortaya yeni bir araştırma metodu olan Sitotaksonomi bilim dalı çıkmıştır. Sitotaksonomistler farklı türler ve yüksek taksonomik sınıflar arasındaki genetik ve sitolojik farklılıkları göz önüne alarak, morfolojik olarak ayrılmayan türlerin sınıflandırılmasında ve evrimsel yönden akrabalık ilişkilerinin belirlenmesinde sağlıklı tahminler oluşturabilmektedirler (Yılmaz, 1997).

Taksonomik çalışmalarda sitolojik karakterler daha güvenilir olarak görülmektedir (Arai, 2011). Çünkü her canlı türünün karyotipi farklıdır. Taksonomide kullanılan sitolojik karakterler kromozomlarla ilgili karakterlerdir. Bunlar kromozom sayısı, morfolojisi ve kromozomların mayozdaki davranışlarıdır. Bir türün karyotipi denildiğinde ise, kromozom sayısı ve büyüklüğü, sentromerin pozisyonu, kromozom kollarının birbirine oranı ve satellitin bulunup bulunmaması gibi özellikler akla gelmektedir. Karyotipler hazırlanırken, kromozom çiftleri büyükten küçüğe doğru boy olarak sıralanarak karyogramlar oluşturulur. Ayrıca idiyogram adı verilen kromozomların şematik diyagramları da hazırlanmaktadır. Bir taksonun idiyogramı diğerlerinden çok az farklılık göstermektedir (Elçi,

1994).

Kromozom analizleri, balıklarla ilgili yararlı veriler sunmaktadır. Kromozom analizleri yardımıyla balık popülasyonlarının genetik yapılarının belirlenmesi, popülasyonlar arası ve popülasyon içi kromozom polimorfizminin tespiti hususunda yapılmış çok sayıda çalışma mevcuttur. Kıkırdaklı balıklar, çenesiz balıklar, ışın yüzgeçli ve lop yüzgeçli balıkların da olduğu 3,425 tür/alttür balığın karyotipi tanımlanmıştır. Bu rakam 62 takım, 515 familya ve 27,977 tür olan balık üst sınıfının sadece %12.2'sine karşılık gelmektedir. Tanımlanan karyotip balık grupları arasında eşit oranda da değildir. Bu sayı Cypriniformes'te 747 (%21.8), Characiformes'de 341 (%10.0), Siluriformes'de 362 (%10.6), Cyprinodontiformes'de 345 (%10.1) ve Cichlidae'de 130 (%3.8) tür şeklindedir (Arai, 2011).

Diğer taraftan kıkırdaklı balıklardan 30 familya ve 4 takım (Orectolobiformes, Echinorhiniformes, Pristiophoriformes, Pristiformes), ışın yüzgeçli balıklardan (Actinopterygii) 5 takıma (Albuliformes, Saccopharyngiformes, Ateleopodiformes, Lampriformes, Polymixiiformes) ait herhangi bir karyotip analizi henüz yapılmış değildir. Balık karyotip çalışmaları 1970'lerden sonra hızlı bir artış göstermektedir. Örneğin 1973'te 481 türün karyotipi biliniyorken 1981'de bu sayı 1,318'e kadar çıkmıştır. Günümüzde ise bu rakam 3,425 tür olarak kayıtlarda yer almıştır (Arai, 2011).

Karyotip çalışmaları tür seçiminde, verimli tür üretiminin yönlendirilmesinde ve sitotoksik kimyasalların izlenebilmesinde önemli katkılar sağlamaktadır (Al-Sabti, 1991). Balık kromozomlarının sayısı ve morfolojileri üzerine yapılan çalışmaların melezleme, sınıflandırma ve evrim araştırmalarına yararlı olduğu bilin-

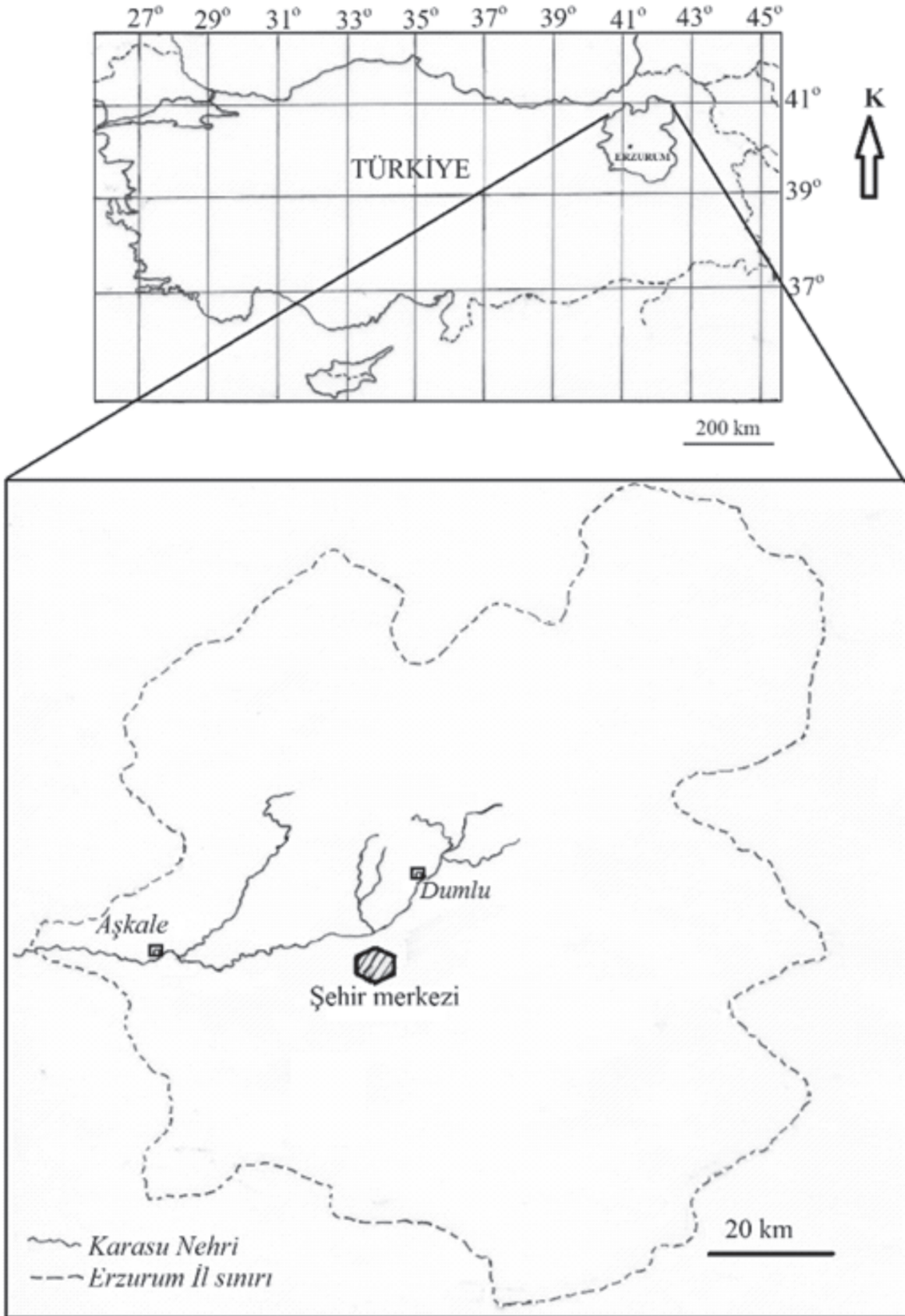
mehtedir (Nishikawa vd., 1971; Çolak vd., 1985). Balıklarda genetik yapının bilinmesi, ıslah çalışmaları yanında, sistematik kategorilerin belirlenmesi ve canlının çevresel etkilerden özellikle de kirleticilerden ne ölçüde etkilendiğinin ortaya çıkarılmasını sağlaması bakımından da önemlidir. Bunlara ek olarak balıkların karyolojik karakterlerinin ortaya konulması daha verimli bireylerin üretilmesine de olanak sağlayabilmektedir (Karahana, 2007). Bu çalışmada Cyprinidae familyasından olan ve Karasu Nehri (Erzurum) faunasında bulunan *Chalcalburnus mossulensis*'in (Heckel, 1843) (Tatlısu Gümüş Balığı) kromozom sayısı ve tiplerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

### Materyal ve Metot

Araştırmamızla ilgili balık örneğinin bulunma ihtimali göz önüne alınarak 2 istasyon seçilmiştir. Bunlardan ilki nehrin Karasu Havzası'nı terk etmeye başladığı yer olan Aşkale ilçesi çıkışı olmuştur. Diğeri gerisinde çok az yerleşim yeri olan ve nehri besleyen ana kollardan biri olan Dumlu Deresi olup Dumlu Beldesi'nin giriş bölümü örnekleme yeri olarak seçilmiştir (Şekil 1). *Chalcalburnus mossulensis* türü balıklar serpmeye ağ yardımıyla 2014 yılı Haziran ve Temmuz ayları içinde belirtilen istasyonlardan belirli sayıda yakalanmıştır. Bunun için gerekli izinler olan Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan Etik Kurulu İzni, Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'ndan Araştırma İzni, Çevre ve Orman Bakanlığı'ndan Araştırma İzni çalışma başlamadan önce ilgili yerlere müracaat edilerek alınmıştır. Toplamda 42 adet balık (22 ♀, 20 ♂) yakalanmış ve araştırmada kullanılmıştır. Yakalanan 42 adet balığın ortalama

ağırlıkları  $25.1 \pm 3.6$  gr, çatal boy  $13.8 \pm 0.6$  cm ve total boy  $15.0 \pm 1.5$  cm olarak ölçülmüştür.

Karyotipik analiz için Collares-Pereira'nın (1992) havada kurutma tekniği değiştirilerek uygulanmıştır. Canlı olarak ağırlıkları ölçülen balıklara önce vücut ağırlığının her bir gramı için 0.01 ml %1'lik fitohemaglutinin insülin iğnesi ile intra-peritoneal olarak enjekte edilmiştir. 48 saat sonra aynı balıklara %6'lık kolşisin her bir gram vücut ağırlığı için 0.01 ml olacak şekilde aynı yolla enjekte edilmiş ve 190 dakika bekletilmiştir. Süre sonunda balıkların solungaç ve böbrekleri çıkarılmıştır. Çıkarılan solungaç ve böbrekler hemen 0.075 M KCl solüsyonuna alınmış ve oda sıcaklığında 60 dakika bekletilmiştir. Sonra santrifüj tüplerine alınan hipotonik solüsyonlu dokular 10 dakika 2000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Süpernatant atılarak tüp altında yaklaşık 2 ml solüsyon bırakılmış ve üzerine 7 ml soğuk karnoy fiksatif ilave edilmiştir. 10 dakika 2000 rpm'de santrifüj edildikten sonra süpernatant atılmış ve tekrar soğuk karnoy ilave edilmiştir. Bu işlem 2 kez tekrarlanmış (toplamda 3) ve son santrifüjden sonra tüp dibinde 1.5-2 ml solüsyon bırakılmıştır. Fiksatif ve doku karışımından oluşan bu solüsyona pipetaj yapılarak soğuk lamalar üzerine 40-50 cm yukarıdan damlatılarak içeriğinin yayılması sağlanmıştır. Lamlar kurutulduktan sonra %5'lik Giemsa boyası içinde 35 dakika boyanması için beklenmiştir. Boyama işleminin sonunda lamlar saf suda yıkanarak tekrar kurumaya bırakılmıştır. Bu şekilde hazırlanan preparatlar Leica DM750 marka mikroskop ve Leica ICC50 HD kameralı 100 büyütme mikroskop ünitesinde incelenmiş ve en iyi metafaz plağı yayımlarının fotoğrafları çekilmiştir.



**Şekil 1.** Karasu Nehri, örneklemelerin yapıldığı istasyonlar. Aşkale: Erzurum-Bayburt karayolu 65. km,  $38^{\circ} 22' 33K$ ,  $036^{\circ} 58' 26D$ . Rakım:1763m. Dumlu: Erzurum-Artvin karayolu 21.km,  $40^{\circ} 01' 52K$ ,  $41^{\circ} 18' 49D$ . Rakım:1763m.



Karyotipler kromozomların boylarına göre sınıflandırılarak hazırlanmıştır. Kromozom formülünü belirlemek için kromozomlardaki her kol ölçülmüştür. Kol ölçümleri Leica LAS EZ 3.0 görüntü analiz etme bilgisayar programıyla yapılmıştır. Her kromozomun kol oranı (KO), sentrometik endeksi (SE) ve nisbi kol uzunluğu (NKU) hesaplanmıştır. Bunun için aşağıdaki formüllerden yararlanılmıştır.

$KO = \text{Uzun Kol} / \text{Kısa Kol uzunluğu} (\mu\text{m})$   
olarak)

$SE = 100 \times \text{Kısa Kol uzunluğu} / \text{Toplam kromozom uzunluğu}$

$NKU = 100 \times \text{Kromozom Toplam Boyu} / \text{Kromozom Boyları toplamı}$

Homolog kromozom çiftlerini ve karyotip formülünü belirlemek için kromozomlar SE değerlerine göre sıralanmıştır. Bu işlem Levan vd. (1964)'ün metoduna göre yapılmıştır. Buna göre SE değeri 50.00-37.51 olan kromozom çiftleri Metasentrik (M), 37.50-25.01 olanlar Submetasentrik (SM), 25.00-12.51 olanlar Subtelosentrik (ST) ve 12.50-0.00 olanlar da Telosentrik (T) olarak sınıflandırılmıştır. Ayrıca Microsoft Office Excel program kullanılarak karyotipin idiyogramı çıkarılmıştır.

Karyotip simetri ve asimetrisi ise Eroğlu (2015)'na göre aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$S/A_1 = (1 \times M) + (2 \times SM) + (3 \times ST) + (4 \times T) / 2n$

$S/A_1 = \text{simetri asimetri indeksi};$

M = metasentrik kromozom sayısı;

SM = submetasentrik kromozom sayısı;

ST = subtelosentrik kromozom sayısı;

T = telosentrik metasentrik kromozom

sayısı;

$2n = \text{diploid kromozom sayısını göstermektedir.}$

Buna göre  $S/A_1$  değeri 1.0-2.0 arasında olan için karyotipi simetrik, 2.1-3.0 olan simetrik asimetric arasında ve 3.1-4.0 olan karyotipde asimetric olarak sınıflandırılmaktadır.

## Bulgular

Tatlısu Gümüş Balığı'nın dişi ve erkek bireylerinin solungaç ve böbreklerinden hazırlanan preparatlarda solungaçta 352 ve böbrekte 419 adet metafaz plağı sayılmıştır. Metafaz sıklığının böbrek dokusunda solungaçtan daha fazla olduğu bulunmuştur. Metafaz plaklarında sayılan kromozom sayısı böbrekte %0.7 oranında  $2n=46$ , %7.9 oranında  $2n=48$ , %90 oranında  $2n=50$  ve % 1.4 oranında  $2n=52$  (Tablo 1), solungaçta ise % 1.4 oranında  $2n=46$ , % 9 oranında  $2n=48$ , % 88.6 oranında  $2n=50$  ve % 1.1 oranında  $2n=52$  (Tablo 2) olarak tespit edilmiştir. En çok tekrar eden değerlerin hem solungaçta hem de böbrekte  $2n=50$  olduğu anlaşılmıştır.

İncelenen 771 metafaz plağından en iyi görünen ve en iyi dağılım gösterenlerden hazırlanan karyogramda kromozomlardan 8 çiftinin metasentrik (M), 10 çiftinin submetasentrik (SM), 3 çiftinin subtelosentrik (ST) ve 4 çiftinin de telosentrik (T) olduğu belirlenmiş ve karyotip  $16M+20SM+6ST+8T$  olarak düzenlenmiştir (Şekil 2).

Kromozom kol uzunluklarının 0.56 ile 2.08  $\mu\text{m}$  arasında değiştiği, en uzun kromozomun subtelosentrik, en kısanın da telosentrik olduğu, kromozom kol sayısının (Fundamental Arm Number:FN) ise  $FN=92$  olduğu bulunmuştur (Tablo 3).

**Tablo 1.** *Chalcalburnus mossulensis*'in böbrek dokusundaki kromozom sayısının sıklık analizi

Örnek sayısı	Metafaz sayısı	2n=46	2n=48	2n=50	2n=52
1. örnek	85	1	9	73	2
2. örnek	94	5	8	80	1
3. örnek	94	1	5	86	2
4. örnek	85	3	5	77	-
5. örnek	61	1	6	54	-
Toplam	419	11	33	370	5
%		0.7	7.9	90	1.4

**Tablo 2.** *Chalcalburnus mossulensis*'in solungaç dokusundaki kromozom sayısının sıklık analizi

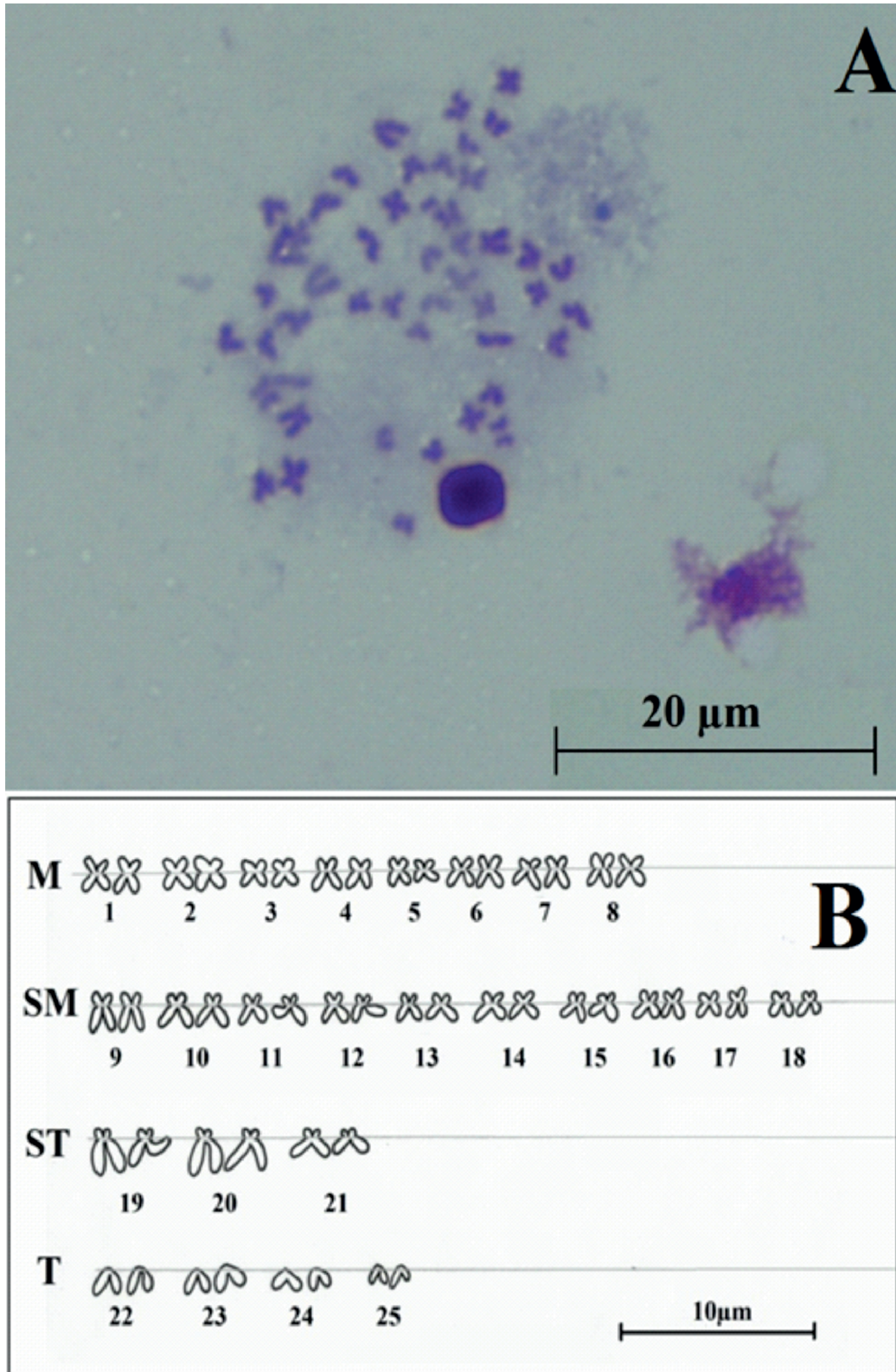
Örnek sayısı	Metafaz sayısı	2n=46	2n=48	2n=50	2n=52
1. örnek	65	2	5	57	1
2. örnek	81	1	8	72	-
3. örnek	52	1	5	45	1
4. örnek	78	1	10	66	1
5. örnek	76	-	3	72	1
Toplam	352	5	31	312	4
%		1.4	9	88.6	1.1

1.2.3.4.5.6.7. ve 8. kromozom çiftleri metasentrik (16M), 9.10.11.12.13.14.15.16.17. ve 18. kromozom çiftleri submetasentrik (20SM), 19.20. ve 21. kromozom çiftleri subtelosentrik (6ST) ve 22.23.24. ve 25. kromozom çiftleri de telosentrik (8T) olarak sırayla gruplandırılmıştır. Bu türde cinsiyete bağlı herhangi bir kromozom ise tespit edilememiştir.

Simetri/asimetri indeksi ise  $S/A_i = (1 \times 16) + (2 \times 20) + (3 \times 6) + (4 \times 8) / 50 = 2.12$  olarak tespit edilmiş olup *Chalcalburnus mossulensis*'in karyotipinin simetrik asimetrik arasında olduğu bulunmuştur.

## Tartışma

Birçok omurgalı grubunun biyolojik sistematikteki yeri ve evrimsel analizleri için karyotip ve genom büyüklükleri mitokondri ve çekirdeklerindeki gen dizilerinin çıkarılmasıyla belirlenirken, oldukça geniş bir grup olan balıkların (yaklaşık 22 bin tür) sistematüğünde çoğunlukla morfoloji ve paleontolojiden yararlanılmaktadır. Sitogenetik yöntemler bu amaç için çok kullanılmamış olmasına rağmen son yıllarda balıklara uygulanan sitogenetik çalışmalarda sayıca bir artış gözlenmektedir.

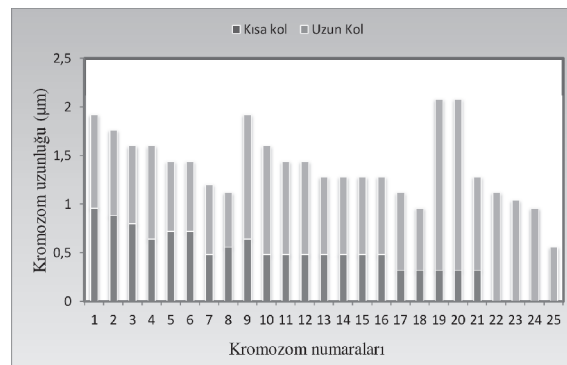


**Şekil 2.** (A) *Chalcalburnus mossulensis*'in giemsa ile boyanmış metafaz plâğı, (B) *Chalcalburnus mossulensis*'in karyotipi. Metasentrik (M), submetasentrik (SM), subtelosentrik (ST) ve telosentrik (T) kromozomlar gruplandırılmıştır (16M+20SM+6ST+8T).

**Tablo 3.** *Chalcalburnus mossulensis*'in kromozomlarının ölçümleri (µm olarak) ve sentromerik endeksleri

Kromozom Numarası	Kısa Kol	Uzun Kol	Toplam Uzunluk	Kol Oranı	Sentromerik Endeks	Nisbi kol Uzunluğu (%)	Kromozom Formu	Kol Sayısı
1	0.96	0.96	1.92	1	50	5.51	M	4
2	0.88	0.88	1.76	1	50	5.05	M	4
3	0.8	0.8	1.6	1	50	4.6	M	4
4	0.64	0.96	1.6	1.5	40	4.6	M	4
5	0.72	0.72	1.44	1	50	4.13	M	4
6	0.72	0.72	1.44	1	50	4.13	M	4
7	0.48	0.72	1.2	1.5	40	3.44	M	4
8	0.56	0.56	1.12	1	50	3.21	M	4
9	0.64	1.28	1.92	2	33.33	5.51	SM	4
10	0.48	1.12	1.6	2.3	30	4.6	SM	4
11	0.48	0.96	1.44	2	33.33	4.13	SM	4
12	0.48	0.96	1.44	2	33.33	4.13	SM	4
13	0.48	0.8	1.28	1.6	37.5	3.67	SM	4
14	0.48	0.8	1.28	1.6	37.5	3.67	SM	4
15	0.48	0.8	1.28	1.6	37.5	3.67	SM	4
16	0.48	0.8	1.28	1.6	37.5	3.67	SM	4
17	0.32	0.8	1.12	2.5	28.57	3.21	SM	4
18	0.32	0.64	0.96	2	33.33	2.75	SM	4
19	0.32	1.76	2.08	5.5	15.38	5.97	ST	4
20	0.32	1.76	2.08	5.5	15.38	5.97	ST	4
21	0.32	0.96	1.28	3	25	3.67	ST	4
22	0	1.12	1.12	∞	0	3.21	T	2
23	0	1.04	1.04	∞	0	2.98	T	2
24	0	0.96	0.96	∞	0	2.75	T	2
25	0	0.56	0.56	∞	0	1.6	T	2
Total	11.36	23.44	34.8					92

\*M: metasentrik, SM: submetasentrik, ST: subtelosentrik, T: telosentrik

**Şekil 3.** *Chalcalburnus mossulensis*'in idiyogramı.

Bu ölçümlere göre hazırlanan idiyogram Şekil 3'de gösterilmiştir.



2011 verilerine göre balıkların 3,425 tür veya alt türünün karyotipi artık bilinmektedir (Arai, 2011). Bu tip çalışmalar ülkemizde yaklaşık 20 yıldan beri yapıyor olmasına rağmen henüz istenilen seviyeye ulaşmamıştır (Gaffaroğlu ve Yüksel, 2005). Bu amaçlar doğrultusunda yapılan araştırmada Cyprinidae (Sazangiller) familyasına ait Erzurum Karasu Nehri'nde yaşayan *Chalcalburnus mossulensis*'in karyotip analizi yapılmıştır. Bilindiği gibi Türkiye içsularında 27 familyaya ait 236 balık türü ve alt türü bulunmaktadır. Tatlı sularımızda yaşayan 116 balık türü ise Cyprinidae familyasına aittir (Kuru, 2004). Çalışma kapsamında karyotipi çıkarılan *Chalcalburnus mossulensis* de bu familyaya aittir ve oldukça geniş bir yayılışa sahiptir. Öyle ki yurdumuzdaki hemen hemen tüm akarsu ve göl sistemlerinde bu balığa rastlamak mümkündür (Geldiay ve Balık, 2009).

Sitogenetik çalışmalar temelde iki şekilde yapılmaktadır: Doğrudan ve Doku Kültürü yöntemi. Karyotip çalışmalarında da bu iki yöntem kullanılmaktadır. Hangi yöntem olursa olsun metafaz dağılımının iyi yapılması karyotip analizi için temel unsurdur. Bu nedenle doku kültürü yöntemleri çok iyi sonuçlar vermektedir. Ancak pahalı olması ve zaman alması gibi dezavantajları vardır. Doğrudan incelemede ise metafaz frekansı düşmekte, ancak ucuz olması ve kısa zamanda sonuç alınması bakımından tercih edilmektedir. Yapılan çalışmada doğrudan inceleme yöntemi bu nedenle tercih edilmiştir. Doku olarak solungaç ve böbrekler seçilmiştir. Bu iki dokuda mitoz bölünme hızı oldukça yüksek olup kromozom elde edilmesi için uygundur (Thorgad ve Disney, 1990; Al-Sabti, 1991).

Çalışmamızda karyotip preparasyonu için sırasıyla fitohemaglutinin ve kolşisin

enjeksiyonu, dekapitasyon, KCl ile hipotenzasyon, karnoy ile fiksasyon ve Giemsa ile boyama standart prosedürü uygulanmıştır. Önce mitozu teşvik etmek amacıyla %1'lik fitohemaglutinin balığın karın boşluğuna enjekte edilmiştir. Diğer araştırmacıların da uyguladığı fitohemaglutinin aynı oranda olup çok iyi sonuçlar vermiştir (Thorgad and Disney, 1990; Collares-Pereira, 1992). İğ ipliği oluşumunu engellemek için kullanılan kolşisin miktarı ise araştırmamızda %6 olarak uygulanmış ve iyi sonuç alınmıştır. Kolşisin miktarı (%0.01, %0.06, %0.1, %0.5, %1, %6) ve uygulama süresi (2, 3, 4, 5 saat) ise oldukça fazla değişkenlik göstermekte olup araştırmacılar en uygun miktarı deneyerek bulmuşlardır (Khosravanizadeh vd. 2011). Daha sonra metafaz kromozomlarını birbirinden ayırmak için dokular 0.075 M KCl ile muamele edilmiştir. KCl yerine %0.4'lük NaCl (Foresti vd. 1992) veya saf su tercih eden araştırmacılar da vardır. Fiksasyon için 3 kısım metanol ve 1 kısım glasiyal asetik asitten oluşan karnoy fiksatifi kullanılmıştır. Fikse olan hücrelerin incelenmesi ise %5'lik Giemsa'da (Collares-Pereira vd. 1998) boyanarak yapılmıştır.

Uygulanan bu yöntem sonucu balıkların solungaç ve böbreklerinden elde edilen metafaz plaklarında kromozomlar sayılmış, sentromerlerine göre sınıflandırılmış ve karyotipler çıkarılmıştır.

Karyotipte ise metasentrik, submetasentrik, subtelosentrik ve akrosentrik kromozom çiftleri oldukça fazla farklılık arz etmektedir. Balık kromozomlarının çok küçük ve sayılarının fazla olmaları, coğrafik farklılıklar, kromozom boyama yöntemleri, ölçümden doğan farklılıklar gibi etkenlerden dolayı balık kromozomları üzerinde yapılan karyotip ve diğer çalışmalarında bazı araştırmacılar farklı

sonuçlar bulabilmekte ve hatta bazen istenilen netice elde edilememektedir (Gaffaroğlu ve Yüksel, 2004). Karyotipteki farklılığın muhtemel sebebi olarak bu durum gösterilebilir.

Çalışmamızda *Chalcalburnus mossulensis*'in  $2n=50$  kromozoma sahip olduğu tespit edilmiştir. Karyotip analizi sonucunda *Chalcalburnus mossulensis*'de 8 metasentrik, 10 submetasentrik, 3 subtelosentrik, 4 akrosentrik kromozom çifti ( $16M+20SM+6ST+8A$ ) olduğu belirlenmiştir. Kol sayısı ise  $FN=92$  olarak sayılmıştır. Buna göre  $S/A_1$  değeri ise 2.12 olup karyotip simetrik asimetric arasındadır. *Chalcalburnus mossulensis* karyotipi ile ilgili Yurdumuzda iki çalışma yapılmış olmakla birlikte benzer sonuçların elde edilmiş olması türümüzün doğrulanması açısından oldukça önemli olarak değerlendirilmiştir. Nitekim Gül vd. (2000), Kızılırmak Nehri'nden yakaladıkları *Chalcalburnus mossulensis*'in kromozom sayısı ve tiplerini inceleyerek ilgili türün diploid kromozom sayısını  $2n=48$  olarak tespit etmişler ve karyotipin  $12M+20SM+16A$  (6 çift metasentrik, 10 çift submetasentrik ve 8 çift akrosentrik kromozom) şeklinde olduğunu bildirmişlerdir. Türe ait eşey kromozomuna da rastlamamışlardır.  $S/A_1$  değeri de 2.41 olup karyotip simetrik asimetric arasındadır. Başka bir çalışmada ise Gaffaroğlu ve Yüksel (2005) Karakaya Baraj Gölü'nde (Fırat Nehri-Diyarbakır) yaşayan *Chalcalburnus mossulensis*'in kromozom sayısını  $2n=50$ , karyotipini 6 çift metasentrik, 8 çift submetasentrik, 5 çift subtelosentrik, 6 çift akrosentrik ( $12M + 16SM + 10ST + 12A$ ) ve kol sayısını da  $FN=88$  olarak tespit etmişler ve eşey kromozomuna rastlanmadığını rapor etmişlerdir.  $S/A_1$  değeri de 2.44 olup karyotip simetrik asimetric arasındadır. Her iki çalışmada elde edilen karyotip simetri/asimetri sonuçları bizim sonuçları-

mızla birebir benzerlik göstermektedir.

Kromozom sayısı bakımından bizim çalışmamızla paralel olan karşılaştırmalı karyotipte kromozom kol sayıları bakımından çok az bir farklılık vardır. Karyotipteki farklılığın nedeni ise yukarıda belirtilen sebepler dışında populasyonla ilgili durumlar da olabilmektedir. İnterspesifik polimorfizm veya örnekleme yerindeki alttürler ve hatta populasyonlar arası farklılıklar bile bu duruma yol açabilir.

Ayrıca preparasyon esnasındaki kromozom kayıpları, fikse olmuş hücrelerin anormal pozisyonları, yakın hücrelerden gelen kromozomlar, kromozomlarda tanımlanamayan mikro kollar, yetersiz örnek sayısı, kromozom kol ölçümündeki hatalar ve kromozom tipinin yanlış belirlenmesi gibi diğer faktörler de çalışmalar arasındaki farklılıklara neden olabilir (Arai, 2011; Khosravanizadeh vd. 2011). Bu nedenle giemsa boyamalı karyotip çalışmalarının FISH (Fluorescence In Situ Hybridization) gibi diğer sitogenetik tekniklerle desteklenmesi gerekmektedir.

Karasu Nehri ve bu nehri besleyen kollarda yaşayan *Chalcalburnus mossulensis*'le ilgili karyotip çalışmaları mevcut değildir.

Bu itibarla çalışmamız Karasu Nehri için bir ilk olma özelliği taşımaktadır. Yapılan bu ve daha sonra yapılacak araştırmalardan elde edilecek sonuçların ekonomik değeri olan balıklarda ıslah, melezleme, mutajenite araştırmalarına ve ekolojik çalışmalara katkılar sağlayacaktır.

### Teşekkür

Bu çalışma Atatürk Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından BAP 2012-477 nolu proje ile desteklenmiştir.

**Kaynaklar**

- Al-Sabti, K. 1991. Handbook of genotoxic effects and fish chromosomes. J. Stefan Institute, Ljubljana, Yugoslavia, 221 pp.
- Arai, R. 2011. Fish Karyotypes: A check list. Springer e-book. Tokyo Berlin Heidelberg New York, 340 pages.
- Collares-Pereira, M. J. 1992. First International Workshop on Fish Cytogenetic Techniques, Concarneau, France, 14-24 September.
- Collares-Pereira, M. J., Prospero, M. I., Bileu, M. I. ve Rodrigues, E. M. 1998. *Leuciscus* (Pisces, Cyprinidae) karyotypes: transect of Portuguese populations. Genetic and Molecular Biology, 21: 63-69.
- Çolak, A., Sezgin, D. ve Sürgü, Y. S. 1985. Sazangiller Familyasına (Cyprinidae) Ait Beni Balığı (*Cyprinion macrostomum* Heckel, 1843)'nda Kromozomal Araştırmalar. Doğa Türk Biyoloji Dergisi, 9: 193-195.
- Elçi, Ş. 1994. Sitogenetikte Araştırma Yöntemleri ve Gözlemler. 100. Yıl Üniversitesi Yayınları, Van, 238s.
- Eroğlu, H. E. 2015. Which chromosomes are subtelocentric or acrocentric? A new karyotype symmetry/asymmetry index. Caryologia, 68: 239-245.
- Forresti, F., Almedo Toledo, L. F. ve Ozoufcostaz, C. 1992. First International Workshop on Fish Cytogenetic Techniques, Draft Report and Contributions. Concarneau, France.
- Gaffaroğlu, M. ve Yüksel, E. 2004. *Cyprinion macrostomus* Heckel, 1843 (Pisces: Cyprinidae)'un karyotip analizi. Gazi Üniversitesi Kırşehir Eğitim Fakültesi Dergisi, 5: 235-239.
- Gaffaroğlu, M. ve Yüksel, E. 2005. *Chalcalburnus mossulensis* Heckel, 1843 (Pisces: Cyprinidae)'in karyotipi. Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, 17: 114-120.
- Geldiay, R. ve Balık, S. 2009. Türkiye Tatlısu Balıkları. Ege Üniversitesi Basımevi, VI. Baskı, İzmir.
- Gül, S., Çolak, A. ve Sezgin, İ. 2000. Gümüş Balığı'nda (*Chalcalburnus mossulensis* Heckel, 1843) Karyotip Analizi. Doğa Türk Biyoloji Dergisi, 24: 657-662.
- Karahan, A. 2007. *Garra rufa* ve *Garra variabilis*'in morfolometrik ve sitogenetik yönden karşılaştırılması olarak incelenmesi. Doktora Tezi, Mersin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Mersin, 123s.
- Khosravanizadeh, A., Pourkazemi, M. ve Nowruz Fashkhami, M. R. 2011. Karyology study on Bleak (*Alburnus alburnus*) from the South Caspian Sea region. Caspian Journal of Environmental Sciences, 9: 27-36.
- Kuru, M. 2004. Türkiye içsu balıklarının son sistematik durumu. Gazi Üniversitesi, Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi, 24: 1-21.
- Levan, A., Fredga, K. ve Sandberg, A. A. 1964. Nomenclature for Centromeric Position on Chromosomes. Hereditas, 52: 201-220.
- Nishikawa, S., Amaoka, K. ve Karasawa, T. 1971. On the Chromosomes of two species of eels (*Anguilla*). Chromosome Information Service No:12, Sihiminoseki University of Fisheries, Shiminoseki, 27-28.
- Thorgard, G. H. ve Disney, J. E. 1990. Chromosome Preparation and Analysis. Methods for Fish Biology. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, USA, 171-187.
- Yılmaz, İ. 1997. Sitolojik ve Karyolojik Özellikler. Taksonomik Zoolojinin Prensipleri ve Metodları (Hayvan Taksonomi Dersleri), Oran Yayıncılık, İzmir, 59-126.